

Utjecaj ultrazvučne obrade na nutritivnu vrijednost soka od jagode

Jasenko, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:511544>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**UTJECAJ ULTRAZVUČNE OBRADNE NA
NUTRITIVNU VRIJEDNOST SOKA OD JAGODE**

DIPLOMSKI RAD

Luka Jasenko

Zagreb, rujan 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:
Hortikultura-Voćarstvo

**UTJECAJ ULTRAZVUČNE OBRADNE NA
NUTRITIVNU VRIJEDNOST SOKA OD JAGODE**

DIPLOMSKI RAD

Luka Jasenko

Mentor: doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Luka Jasenko** , JMBAG 1003107068, rođen 18.5.1994. u Bjelovaru, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ ULTRAZVUČNE OBRADJE NA NUTRITIVNU VRIJEDNOST SOKA OD JAGODE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Luke Jasenka** , JMBAG 1003107068, naslova
Utjecaj ultrazvučne obrade na nutritivnu vrijednost soka od jagode
obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|------------------------------|--------|-------|
| 1. | doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur | mentor | _____ |
| 2. | prof. dr. sc. Sandra Voća | član | _____ |
| 3. | prof. dr. sc. Boris Duralija | član | _____ |

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Jani Šic Žlabur na susretljivosti, strpljivosti i pomoći pri izradi diplomskog rada. Isto tako, zahvaljujem se na svom prenesenom znanju, kako za vrijeme pisanja diplomskog rada, ali isto tako i za vrijeme studiranja na Agronomskom fakultetu.

Također se zahvaljujem svim zaposlenicima Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport, koji su mi rad u laboratoriju učinili ugodnim. Posebno hvala gđi. Martini Krilčić bez čije asistencije i pomoći rad u laboratoriju ne bi bio moguć.

Na kraju, želio bih zahvaliti cijeloj obitelji, sestri Andrei i bratu Matiji, na pruženoj potpori tijekom studiranja, te roditeljima, Đuri i Ivanki, koji su mi omogućili studirati i bez kojih cjelokupno studiranje ne bi bilo moguće.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. Pregled literature.....	2
2.1. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost ploda jagode	2
2.2. Pasterizacija	2
2.3. Ultrazvučni tretman	3
3. Materijali i metode	4
3.1. Biljni materijal	4
3.2. Priprema soka od jagode	4
3.3. Metode rada.....	6
3.3.1. Određivanje topljive suhe tvari (TST)	6
3.3.2. Određivanje ukupne kiselosti.....	6
3.3.3. Određivanje pH-vrijednosti	7
3.3.4. Električna provodljivost.....	7
3.3.5. Određivanje vitamina C	8
3.3.6. Određivanje ukupnih fenola.....	9
3.3.7. Određivanje neflavonoida i flavonoida.....	10
3.3.8. Određivanje sadržaja antocijana	11
3.3.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom	12
3.3.10. Statistička obrada podataka	13
4. Rezultati i rasprava	14
4.1. Fizikalno-kemijska svojstva.....	14
4.2. Sadržaj specijaliziranih metabolita	15
5. Zaključci.....	20
6. Popis literature	21
7. Prilog	25
Životopis.....	26

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Luke Jasenka**, naslova

UTJECAJ ULTRAZVUČNE OBRADJE NA NUTRITIVNU VRIJEDNOST SOKA OD JAGODE

Toplinska obrada, u usporedbi s drugim metodama konzerviranja hrane, ima važnu prednost u osiguravanju sigurnosti hrane i dugom čuvanju zbog destruktivnog učinka na enzime i mikroorganizme. Međutim, nespecifični učinak topline može uzrokovati smanjenje nutritivne i senzorne kvalitete hrane i narušiti njezina funkcionalna svojstva. Kako bi se izbjegli neželjeni učinci topline, u procesiranju hrane počinju se koristiti neinvazivni postupci, a koji prije svega osiguravaju očuvanje nutritivne kvalitete proizvoda. Jedna od spomenutih tehnika je i ultrazvuk koja se klasificira kao netoplinska metoda. U prehrambenoj tehnologiji koristi se ultrazvuk visokog intenziteta (u rasponu od 10-1000 W/cm² i frekvencijom 20-100 kHz), a koji uslijed djelovanja glavnog mehanizma kavitacije uzrokuje mehaničke, fizikalne i kemijske promjene.

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj toplinske obrade i ultrazvučnog tretmana na nutritivnu kvalitetu soka od jagode. U svrhu konvencionalne toplinske obrade soka od jagode proveden je postupak pasterizacije pri dvije temperature obrade (60 °C i 80 °C) u vremenskom trajanju od 15 i 35 minuta, dok je ultrazvučna obrada soka provedena u ultrazvučnoj kupelji (35 kHz i 40 W) pri sobnoj temperaturi, te temperaturi kupelji od 60 °C i 80 °C i u vremenskom trajanju od 15 i 35 minuta. Od parametara nutritivne vrijednosti soka od jagode analizirana su: fizikalno kemijska svojstva (sadržaj suhe tvari, topljive suhe tvari, ukupne kiseline, pH vrijednost i električna provodljivost); sadržaj bioaktivnih spojeva (vitamina C, ukupnih fenola, flavonoida, neflavonoida, antocijana), te antioksidacijski kapacitet.

Temeljem dobivenih rezultata, dokazano je kako ultrazvuk nije značajno utjecao na većinu fizikalno-kemijskih svojstava soka jagode, osim na sadržaj ukupnih kiselina. Pasterizacija je utjecala na povećanje sadržaja suhe tvari i električne provodljivosti. Što se tiče sadržaja istraživanih specijaliziranih metabolita, ultrazvuk je utjecao na povećanje sadržaja vitamina C, ukupnih fenola, ukupnih antocijana i antioksidacijskog kapaciteta. Na kraju svih analiza može se zaključiti kako je primjena ultrazvuka prilikom obrade soka utjecala na očuvanje nutritivne vrijednosti istog, te pogodovala očuvanju vrijednih bioaktivnih spojeva.

Ključne riječi: ultrazvuk, pasterizacija, sok od jagode, bioaktivni spojevi, antioksidacijski kapacitet

Abstract

Graduate thesis by **Luka Jasenko**,

INFLUENCE OF ULTRASONIC TREATMENT ON NUTRITIONAL VALUE OF STRAWBERRY JUICE

Heat treatment, compared with the other methods of food preservation, has an important advantage in ensuring food security and long-lasting storage due to its destructive effect on enzymes and microorganisms. However, the non-specific effect of heat can cause a decrease in the nutritional and sensory quality of the food and impair its functional properties. In order to avoid the undesirable effects of heat, non-invasive methods are being used in food processing, which primarily ensure the preservation of nutritional quality of the product. One of the mentioned techniques is also ultrasound, which is classified as a non-thermal method. High-intensity ultrasound (in the range of 10-1000 W/cm² and frequency of 20-100 kHz) is used in food technology, which, due to the action of the main cavitation mechanism, results in mechanical, physical and chemical changes.

The aim of this study was to determine the influence of heat and ultrasonic treatment on the nutritional quality of strawberry juice. For the purpose of conventional heat treatment a pasteurization process was carried out at two treatment temperatures (60 °C and 80 °C) for 15 and 35 min, while ultrasonic treatment of the juice was performed in an ultrasonic bath (35 kHz and 40 W) at room temperature and at 60 °C and 80 °C for 15 and 35 min. From the nutritional parameters of strawberry juice, analysed were following: physicochemical properties (dry matter content, total soluble solids, total acids, pH value and electrical conductivity); content of bioactive compounds (vitamin C, total phenols, flavonoids, non-flavonoids, anthocyanins) and antioxidant capacity.

Based on the obtained results, it was determined that ultrasound did not significantly affect most of the physicochemical properties of strawberry juice, except total acids content. Pasteurization has led to an increase in dry matter content and electrical conductivity. Regarding the content of the studied specialized metabolites, ultrasound influenced the increase in the content of vitamin C, total phenols, total anthocyanins and antioxidant capacity. Based on the obtained results, can be concluded that ultrasound application significantly affected on the preservation of nutritional value and also on the content of bioactive compounds in strawberry juice.

Keywords: ultrasound, pasteurization, strawberry juice, bioactive compounds, antioxidant capacity

1. Uvod

Osim osnovnih elemenata kemijskog sastava, plod jagode sadrži i nekoliko bitnih bioaktivnih spojeva koji zbog svojih antioksidacijskih svojstava čine važnu ulogu u prehrani, ljudskom zdravlju i prevenciji raznih bolesti (Törrönen i Määttä 2000; Manganaris i sur., 2014). Neki od važnijih bioaktivnih spojeva zastupljenih u plodu jagode su antocijani, flavonoidi, flavonoli, fenolne kiseline i vitamini (Voća i sur., 2014).

Popularni su brojni proizvodi od jagode, a od kojih ponajviše sok. Sok od jagode karakteristične je boje i arome koja potječe od antocijana od kojih su u jagodi najzastupljeniji glukozidni oblici cijanidina, malvidina, delphinidina, peonidina, petunidina i pelargonidina. Pelargonidin-3-glikozid je najzastupljeniji antocijan u soku od jagode. Sadržaj antocijana u voću uvelike je pod utjecajem raznih genetskih (kultivar), okolišnih i agronomskih čimbenika. Antocijani su vrlo nestabilni i svaki postupak procesiranja i obrade hrane često pokazuje negativan učinak na njihov sadržaj. Na njihovu stabilnost uvelike utječu uvjeti obrade, uključujući pH, temperaturu, svjetlo, kisik, vrstu otapala kao i prisutnost enzima, flavonoida, proteina i metalnih iona (Dubrović i sur., 2011).

U današnje vrijeme, još uvijek se uglavnom koriste konvencionalne tehnike obrade hrane (pasterizacija) u svrhu osiguravanja mikrobiološke ispravnosti hrane, a time i očuvanja namirnice na duži vijek trajanja. Pasterizacija je postupak izlaganja namirnica temperaturama u rasponu od 75-100 °C u vremenskom razdoblju od 30 minuta. To je proces uništavanja vegetativnih oblika mikroorganizama uz istovremenu inaktivaciju enzima u hrani. Međutim, svakim toplinskim tretmanom dolazi do degradacijskih procesa u hrani, kao što su gubitak vitamina, pigmenata, brojnih organoleptičkih svojstava, kao i drugih sastojaka nutritivne vrijednosti istog.

S druge strane, sve se više razvijaju tehnike minimalne, neinvazivne obrade hrane, a od kojih je jedna i ultrazvuk. Ultrazvuk se ubraja u neinvazivne, netoplinske tehnike kojom se postiže maksimalno očuvanje nutritivne kvalitete namirnice uz očuvanje biološki aktivnih spojeva (Brnčić, 2006). U procesima prehrambene tehnologije i biotehnologije koristi se ultrazvuk visokog intenziteta kojeg karakterizira upotreba zvučnih valova visokog intenziteta (obično u rasponu od 10-1000 W/cm²) i frekvencija između 18 i 100 kHz (Knorr i sur., 2004; Brnčić, 2006; Bosiljkov i sur., 2010). Što se tiče ultrazvučne obrade sokova, ona pokazuje minimalan učinak na degradaciju ključnih parametara kvalitete kao što su boja i nutritivna kvaliteta, odnosno sadržaj pojedinih karakterističnih bioaktivnih spojeva. Još jedna prednost ultrazvuka nad pasterizacijom je ta što pasterizacija kao proces zahtjeva duže vrijeme obrade namirnice, dok se kod ultrazvučnog procesiranja željeni rezultati postižu u značajno kraćem vremenu (Grbeš, 2017).

1.1. Cilj rada

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj toplinske obrade i ultrazvučnog tretmana na nutritivnu kvalitetu soka jagode.

2. Pregled literature

2.1. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost ploda jagode

Plod jagode (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) ima visoke razine mikronutrijenata i fitokemijskih spojeva, posebno antocijana i fenolnih spojeva. Razine tih fitokemikalija snažno utječu na senzorno-organoleptičke attribute i hranjivu vrijednost ploda. Visokog je sadržaja vode i niske energetske vrijednosti, ali jako vrijedan izvor prehrambenih vlakana, antioksidansa i drugih spojeva koji imaju blagotvoran učinak na zdravlje. Fenoli su najzastupljenija kategorija fitokemikalija u plodu jagode, a značajni su i po svojoj antioksidacijskoj aktivnosti, a time i različitim fiziološkim učincima u ljudskom organizmu. Fenolni spojevi također, sudjeluju u brojnim biokemijskim procesima u plodu poput formiranja boje i okusa. Iz skupine fenolnih spojeva, plod jagode u najvećoj mjeri sadrži antocijane. Antocijani su glavni nositelji boje jagode, a identificirano ih je preko 25 različitih vrsta. Osim antocijana, u plodu jagode značajno su zastupljeni i drugi iz kategorije fenolnih spojeva poput flavonola i flavanola (Bebek, 2016).

Osim spomenutih spojeva, u plodu jagode sadržana je i značajna količina prehrambenih vlakana i jednostavnih ugljikohidrata poput fruktoze, a koji mogu doprinijeti regulaciji količine šećera u krvi. Sjemenke jagode sadrže esencijalne (nezasićene) masne kiseline (Giampieri, 2012). Plod jagode bogat je izvor vitamina C (64,0 mg/100 g svježe tvari), a od minerala sadrži i kalcij (16,0 mg/100 g) i kalij (153,0 mg/100 g). (Bebek, 2016).

2.2. Pasterizacija

Pasterizacija je općenito proces uništavanja vegetativnih oblika mikroorganizama uz istovremenu inaktivaciju enzima. Postiže se izlaganjem namirnica letalnom vremenu i letalnoj temperaturi koji su različiti za različite vrste hrane i referentne mikroorganizme. Pasterizacijom se uništavaju bakterije. Prilikom pasterizacije primjenjuje se temperatura do 100 °C u trajanju do 30 minuta. Najčešći toplinski intervali koji se primjenjuju su u rasponu od 75 do 100 °C, no oni se zajedno s vremenskim periodom zagrijavanja za svaki proizvod, odnosno tip namirnice određuju posebno. Na parametre temperature i vremena obrade soka između spomenutih utječu još broj mikroorganizama, pH vrijednost i veličina ambalaže (Niketić-Aleksić, 1988). Pasterizacija bistrih sokova provodi se kontinuiranim postupkom u pločastim ili cijevnim izmjenjivačima topline (pasterizatorima) ili nakon punjenja u boce, u tunelskom pasterizatoru. Bolji način pasterizacije je u protoku jer je u tom slučaju namirnica (sok) kratkotrajno izložena djelovanju visokih temperatura.

2.3. Ultrazvučni tretman

Ultrazvuk je vrsta energije koja se generira zvučnim valovima frekvencija koje su više od onih koje ljudsko uho može detektirati (iznad 16 kHz). Djelovanje ultrazvuka na biološke strukture dovodi do kompleksnih pojava na staničnoj razini koje se mogu iskoristiti za željeni rezultat. Ovisno o parametrima poput frekvencije, snage generatora, tlaka, temperature, itd. mogu se izazvati željene pojave na namirnici koje imaju široku primjenu (Zbigniew i sur., 2007). Namirnice poput voća su kompleksne građe, s udjelom različitih spojeva nutritivne važnosti poput vitamina, šećera, vlakana, aromama, itd., a zbog takvog sastava vrlo su osjetljive na temperaturu budući da dolazi do degradacijskih promjena pod utjecajem visoke temperature. Iz tog razloga glavna prednost ultrazvuka je činjenica da se provodi pri nižim temperaturama što dovodi do uvećane efikasnosti procesa, smanjenih gubitaka i manje korištenja energije (Chemat i sur., 2010).

Područje ultrazvuka dijeli na tri dijela: dijagnostički ultrazvuk, ultrazvuk visoke frekvencije (niski intenzitet) i ultrazvuk visoke snage (visoki intenzitet i niske frekvencije) (Lovrić, 2003). Mehanizam na kome se zasniva korištenje ultrazvuka u prehrambenoj tehnologiji temelji se na fenomenu kavitacije. Emitiranjem zvučnih valova u tretiranoj tekućini dolazi do nastanka longitudinalnih valova koji dovode do stvaranja faza kompresije i ekspanzije koje se pojavljuju naizmjenično. Upravo zbog promjena tlaka dolazi do stvaranja kavitacijskih mjehurića, a u kojima se u zoni ekspanzije volumen povećava sve do kritične veličine. U trenutku kad mjehurić dosegne kritičnu veličinu dolazi do kondenzacije pare i implozije samog mjehurića. Molekule se međusobno sudaraju dok u točkama sudara dolazi do ekstremnog porasta temperature, čak i do 5000 °C uz povišenje tlaka (Butz i Tauscher, 2002). Opisani mehanizam, narušava strukturu stanica, a upravo zbog navedenog smatra se i letalnim za mikroorganizme (Hoover, 2000). Također, opisani fenomen temeljni je mehanizam primjene ultrazvuka visokog intenziteta u prehrambenim tehnologijama. Da bi tretman ultrazvukom uspio izazvati kavitaciju potrebno je poznavati i odrediti procesne parametre kao što su frekvencija i intenzitet ultrazvuka. Također, potrebno je poznavati svojstva proizvoda koji se tretira (površinska napetost, viskoznost itd.) te primijeniti odgovarajući temperaturni režim i tlak. Ovisno o frekvenciji i intenzitetu ultrazvuka mogu se razlikovati i nastale kavitacije. Pri manjim intenzitetima veličina kavitacijskog mjehurića se ne mijenja značajno kroz naizmjenične cikluse ekspanzije i kompresije tako da ne dolazi do implozije ili eksplozije kavitacijskih mjehurića. Pri takvoj kavitaciji nastali mjehurići vibriraju i stvaraju strujanje u tekućini te u konačnici ne izazivaju nikakve promjene na materijalu (Wu i Nyborg, 2008).

3. Materijali i metode

3.1. Biljni materijal

Plodovi jagode sorte 'Clery' ubrani su u optimalnom roku berbe (lipanj 2018.) u proizvodnom nasadu tvrtke Fragaria d.o.o u Botincu, a potom transportirani u laboratorij Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu gdje su oprani, a oni s mehaničkim oštećenjima i vidljivim znakovima kvarenja uklonjeni. Plodovi su zatim zamrznuti do početka provedbe pokusa, odnosno pripreme soka.

3.2. Priprema soka od jagode

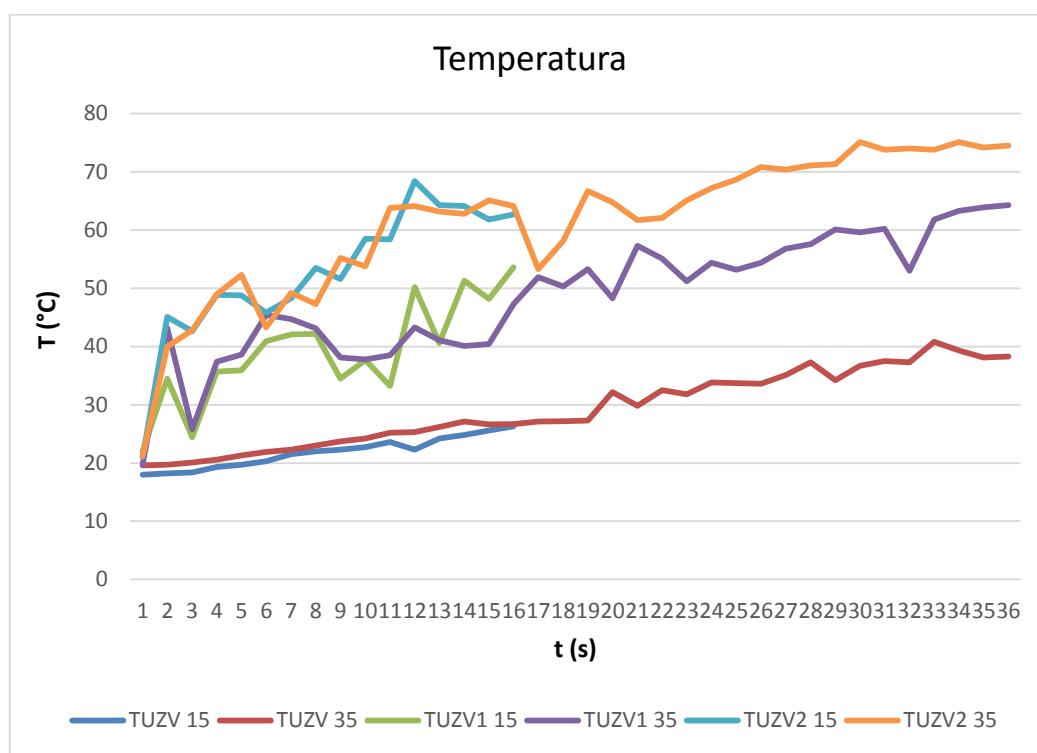
Za potrebe pripreme soka plodovi su prethodno odmrznuti te je iz njih u centrifugalnom sokovniku „Bullet Express“ (Kina) izdvojen sok. Izdvojeni svježi sok jagode odvojen je u staklenke za potrebe daljnje provedbe pokusa: kontrolni uzorak (svježe izdvojeni sok od jagode), uzorci namijenjeni konvencionalnoj toplinskoj obradi, pasterizaciji, te uzorci tretirani ultrazvukom. Uzorci soka pasterizirani su pri dvije temperature: 60 °C i 80 °C u dva vremenska perioda: 15 i 35 minuta. Tretman sokova ultrazvukom proveden je u ultrazvučnoj kupelji (Slika 3.2.1.) „Bandelin“ RK 103H (Njemačka) pri frekvenciji od 35 kHz nominalne maksimalne snage uređaja od 140 W. Ultrazvučni tretman proveden je pri sobnoj temperaturi te pri dvije temperature kupelji: 60 °C i 80 °C u dva vremenska perioda: 15 i 35 minuta. Detaljan plan pokusa prikazan je i u Tablici 3.2.1. Kod tretmana ultrazvukom mjerena je temperatura uzoraka soka infracrvenim termometrom „Uni-trend technology“ UT 300C (Kina) u vremenskim intervalima od 1 min, a što je prikazano u Grafikonu 3.2.1.



Slika 3.2.1. Ultrazvučna kupelj „Bandelin“ RK 103H (Foto: Jasenko, 2019.)

Tablica 3.2.1. Dizajn eksperimenta tretiranih sokova od jagode

Tretman	Temperatura (°C)	Vrijeme (min)	Ultrazvučna kupelj	Uzorak
Bez tretmana	-	-	-	TK
Pasterizacija	60	15	-	TP ₁ 15
Pasterizacija	80	35	-	TP ₁ 35
Pasterizacija	60	15	-	TP ₂ 15
Pasterizacija	80	35	-	TP ₂ 35
Ultrazvuk	21,5	15	35 kHz 140 W	TUZV 15
Ultrazvuk	21,5	35	35 kHz 140 W	TUZV 35
Ultrazvuk	60	15	35 kHz 140 W	TUZV ₁ 15
Ultrazvuk	80	35	35 kHz 140 W	TUZV ₁ 35
Ultrazvuk	60	15	35 kHz 140 W	TUZV ₂ 15
Ultrazvuk	80	35	35 kHz 140 W	TUZV ₂ 35



Grafikon 3.2.1. Temperatura uzoraka soka jagode prilikom ultrazvučnog tretmana u vremenskim intervalima od 1 minute

3.3. Metode rada

Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava uzoraka soka uključivalo je analize sljedećih parametara: ukupne suhe tvari (ST, %), ukupnih kiselina (KIS, %), topljive suhe tvari (TST, %), pH-vrijednosti i električne provodljivosti (EP, mS/cm), dok je od biokativnih spojeva određen sadržaj: vitamina C (g/100 g suhe tvari), ukupnih fenola (neflavonoida i flavonoida, mg GAE/100 g suhe tvari), ukupnih antocijana (g/kg), te antioksidacijskog kapaciteta (mmol TE/L).

3.3.1. Određivanje topljive suhe tvari (TST)

Sadržaj topljive suhe tvari određen je refraktometrijski izravno očitanjem s ljestvice refraktometra, a izražena je u postocima (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor: stakleni štapić, refraktometar „Mettler–Toledo” Refracto 30PX (Švicarska).

3.3.2. Određivanje ukupne kiselosti

Metoda određivanja ukupne kiselosti temelji se na potenciometrijskoj titraciji otopinom natrijeva hidroksida. Primjenjuje se za određivanje ukupne kiselosti u voću i povrću i proizvodima od voća i povrća (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor: graduirana pipeta, volumena 25 i 100 mL, odmjerne tikvice (volumena 250 mL), analitička vaga (Sartorius), potenciometar sa staklenom elektrodom (Mettler Toledo, Sevenmulti), bireta volumena 100 mL, filter papir

Reagensi: natrijev hidroksid, otopina c (NaOH) = 0,1 mol/L, puferna otopina poznatog pH

Priprema uzoraka: Uzorak se homogenizira i odvagane se 20 g, te se prenese u odmjernu tikvicu volumena 200 mL, tikvica se dopuni do oznake destiliranom vodom i njezin se sadržaj dobro promućka i profiltrira. pH-metar se baždari pomoću standardne puferne otopine. Ovisno o očekivanoj kiselosti otpipetira se 20 mL pripremljenog uzorka i prenese u čašu u koju se prethodno stavi magnet koji će pospješiti miješanje sadržaja. Miješalica se pusti u rad, a zatim iz birete brzo dodaje otopina natrijevog hidroksida dok se ne postigne pH oko 7. Tada se dodavanje uspori do pH 8,1±8,2. Uzorak se analizira u najmanje dva ponavljanja.

$$\text{Ukupna kiselost (\%)} = \frac{V \times F \times G}{D} \times 100$$

V (mL) - volumen otopine NaOH utrošene pri titraciji

F* - faktor otopine NaOH c = 0,1 mol/L

G (g/mL) - faktor najzastupljenije kiseline u uzorku

D (g) - masa uzorka u 25 mL razrijeđenog homogeniziranog uzorka

3.3.3. Određivanje pH-vrijednosti

Mjerenje pH-vrijednosti određuje se pH-metrom (Slika 3.3.3.1.), uranjanjem kombinirane elektrode u homogenizirani uzorak i očitavanjem vrijednosti (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor: čaša volumena 25 mL, magnet za miješanje, magnetska miješalica (MM-510), pH-metar (Mettler Toledo, SevenMulti, Švicarska), analitička vaga (Sartorius)

Priprema uzoraka: Priprema uzorka za određivanje pH-vrijednosti ista je kao i za ukupne kiseline.

Postupak određivanja: Prije mjerenja pH-metar je potrebno baždariti pufernom otopinom poznate pH-vrijednosti kod sobne temperature. pH vrijednost određuje se uranjanjem elektrode u ispitivani uzorak.



Slika 3.3.3.1. Određivanje pH vrijednosti (Foto: Jasenko, 2019)

3.3.4. Električna provodljivost

Električna provodljivost (mS/cm) mjerena je digitalnim konduktometrom (Slika 3.3.4.1.) (SevenEasy, Mettler-Toledo, Switzerland).



Slika 3.3.4.1. Uređaj za mjerenje električne provodljivosti (SevenEasy, Mettler-Toledo, Švicarska (Foto: Jasenko, 2019)

3.3.5. Određivanje vitamina C

2,6-diklorindofenol oksidira L-askorbinsku kiselinu u dehidrosakorbinsku kiselinu, dok boja reagensa ne prijeđe u bezbojnu leukobazu, pa služi istovremeno i kao indikator ove redoks reakcije. Ova metoda se primjenjuje za određivanje askorbinske kiseline u proizvodima od voća i povrća (AOAC, 2002).

Aparatura i pribor: homogenizator, analitička vaga (Sartorius), odmjerna tikvica volumena 100 mL, čaše volumena 100 mL, bireta 50 mL

Reagensi: 2,6-p-diklorindofenol, 2 %-tna oksalna kiselina

Priprema uzoraka: Na odmjernu tikvicu od 100 mL postavi se lijevak te se preko njega u tikvicu odvaže 10 g uzoraka na tehničkoj vagi. Takav se uzorak kvantitativno prenese u tikvicu pomoću 2 %-tne otopine oksalne kiseline, a odmjerna se tikvica nadopuni do oznake otopinom oksalne kiseline.

Postupak određivanja: Sadržaj iz odmjerne tikvice se profiltrira, a filtrat služi a određivanje askorbinske kiseline. Otpipetira se 10 mL filtrata koji se titrira otopinom 2,6-

diklorindofenolom i to do pojave ružičaste boje koja mora biti postojana barem pet sekundi. Iz volumena 2,6- diklorindofenola utrošenog za titraciju filtrata, izračuna se količina L-askorbinske kiseline (vitamina C).

$$\text{Vitamin C (mg/100g)} = \frac{V \times F}{D} \times 100$$

V (mL) - volumen utrošenog 2,6-diklorindofenola pri titraciji

F* - faktor normaliteta 2,6-diklorindofenola

D (g) - masa uzorka u filtratu u gramima

***Određivanje faktora otopine 2,6-diklorindofenola:**

Za određivanje faktora otopine 2,6-diklorindofenola potrebno je napraviti otopinu askorbinske kiseline koja će se titrirati s otopinom 2,6-diklorindofenola. Prema očitanoj volumenu 2,6-diklorindofenola potrebnog za titraciju poznate mase standarda vitamina C izračuna se faktor te otopine. U odmjernu tikvicu od 50 mL na analitičkoj vagi odvagane se $\pm 0,0100$ g askorbinske kiseline, a tikvica nadopuni do oznake 2%-tnom otopinom oksalne kiseline. U Erlenmeyerovu tikvicu od 50 mL otpipetira se 5 mL 2%-tne otopine oksalne kiseline i 5 mL pripremljene otopine askorbinske kiseline te se titrira s otopinom 2,6-diklorindofenola do pojave ružičaste boje koja mora biti postojana barem 5 sekundi. Iz podatka utrošenog volumena otopine 2,6-diklorindofenola potrebnog za titraciju određene mase askorbinske kiseline izračuna se faktor (F) otopine 2,6-diklorindofenola.

3.3.6. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određuju se spektrofotometrijski u etanolnom ekstraktu uzorka mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri valnoj duljini 750 nm. Metoda se bazira na obojenoj reakciji koju fenoli razvijaju s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibdene kiseline, koje se pri oksidaciji fenolnih spojeva iz uzorka reduciraju u wolfram-oksidi i molibden oksidi koji su plavo obojeni (Ough i Amerine, 1988).

Aparatura i pribor: tehnička vaga (s točnošću $\pm 0,01$), konusna tikvica, odmjerna tikvica (50 i 100 mL), obični lijevak, filter papir, povratno hladilo, pipete, kivete, spektrofotometar (Schimadzu, UV 1650 PC)

Kemikalije: 80 %-tni etanol, Folin-Ciocalteu reagens, zasićena otopina natrijeva karbonata

Izrada baždarnog pravca: Za pripremu baždarnog pravca odvažuje se 500 mg galne kiseline, otopi u 80 %-om etanolu i nadopuni u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline pripreme se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL standarda (stock otopina) u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake 80 %-im etanolom. Koncentracije galne kiseline u

tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom se dodaje redom 30 mL destilirane vode, 2,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa i nadopunjava destiliranom vodom do oznake. Uzorci se ostave dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrtava se baždarni pravac tako da se na apscisi nanese koncentracija galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije.

Ekstrakcija fenolnih spojeva iz uzoraka voća ili povrća: 10 g uzorka se izvaže s točnošću $\pm 0,01$ g i homogenizira se s 40 mL 80 %-tnog etanola. Homogena smjesa kuha se 10 minuta uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira u odmjernu tikvicu od 100 mL. Zaostali talog zajedno s filter papirom se prebaci s 50 mL 80 %-tnog etanola u tikvicu sa šlifom i dodatno kuha uz povratno hladilo još 10 min. Dobiveni ekstrakt se spoji s prethodno dobivenim ekstraktom i nadopuni do oznake s 80 %-tnim etanolom. U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetira se 0,5 mL ekstrakta i redom dodaje 30 mL destilirane vode i 2,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 7,5 mL otopine zasićenog natrijeva karbonata. Sadržaj tikvica dobro se izmiješa i nadopuni destiliranom vodom do oznake te se ostavi dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

Račun: Baždarni pravac nacrtava se pomoću računala u programu Microsoft Excel, te se izračuna jednadžba pravca prema kojoj se izračuna koncentracija ukupnih fenola.

$$y = 0,001 x + 0,0436$$

y – apsorbancija na 750 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/ L)

3.3.7. Određivanje neflavonoida i flavonoida

Za taloženje flavonoidnih fenolnih spojeva preporuča se upotreba formaldehida. Formaldehid reagira s C-6 ili C-8 pozicijom na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojevima također na C-6 ili C-8 poziciji. Pri tome nastaju kondenzirane molekule koje se uklone filtriranjem. Ostatak neflavonoidnih fenola određuje se po metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988). Razlika ukupnih fenola i neflavonoida daje količinu flavonoida.

Aparatura i pribor: filter papir, stakleni lijevci, Erlenmeyer-ova tikvica sa šlifom i čepom volumena 25 mL, pipete volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL, analitička vaga, staklene kivete, spektrofotometar (Schimadzu, UV 1650 PC)

Kemikalije: klorovodična kiselina, HCl 1: 4 (konc. HCl razrijedi se vodom u omjeru 1: 4), formaldehid (13 mL 37 %-tnog formaldehida u 100 mL vode), dušik za propuhivanje uzorka, zasićena otopina natrijeva karbonata, Folin-Ciocalteu reagens, 80 %-tni etanol

Priprema uzorka: Ekstrakt ukupnih fenola (opisan u poglavlju 3.5.6.) koristi se i za određivanje flavonoida i neflavonoida.

Postupak određivanja: Otpipetira se 10 mL ekstrakta u tikvicu od 25 mL i doda 5 mL otopine HCl (1:4) te 5 mL formaldehida. Smjesa se propuše dušikom, zatvori i ostavi stajati 24 sata na sobnoj temperaturi u mraku. Sljedeći dan se profiltrira preko filter papira i slijedi isti postupak kao za određivanje ukupnih fenola.

Račun: Koncentracija neflavonoida izračunava se na isti način kao i koncentracija ukupnih fenola uzimajući u obzir i dodatna razrjeđenja. Iz razlike količine ukupnih fenola i neflavonoida odredi se količina ukupnih flavonoida.

3.3.8. Određivanje sadržaja antocijana

Određivanje sadržaja antocijana metodom izbjeljivanja disulfitom temelji se na principu da se HSO_3^- ion veže na 2' položaj molekule antocijana te tako prevodi obojeni kation antocijana u bezbojni leuko oblik. Istovremeno se kontrolni uzorak tretira s destiliranom vodom, a zatim se kolorimetrijski određuje razlika apsorbancije u oba uzorka. Dobivena razlika pokazuje količinu antocijana u nekom uzorku (Ough i Amerine, 1988).

Aparatura i pribor: analitička vaga (s točnošću $\pm 0,0001$), staklena čaša volumena 50 mL, pipete (2, 5, 10 i 20 mL), epruvete, kivete, spektrofotometar (Schimadzu, UV 1650 PC), centrifuga (HETTICH, ROTOFIX 32)

Kemikalije: 0,1 % HCl s 96%-im etanolom (0,1 mL koncentrirane HCl nadopuni se s 96 %-tnim etanolom do 100 mL), 2 %-tna otopina HCl, 15 %-tna otopina natrij-hidrogensulfita (NaHSO_3)

Priprema uzorka: U kivetu se odvaži 2 g uzorka s točnošću $\pm 0,0001$, otpipetira se 2 mL 0,1% HCl s 96 %-im etanolom i 40 mL 2 %-ne otopine HCl. Dobro se promiješa i kivete se stave na centrifugiranje 10 minuta pri 4500 okretaja u minuti. Nakon centrifugiranja bistri dio otopine se od dekantira i dalje koristi za analizu sadržaja antocijana.

Postupak određivanja: Nakon centrifugiranja od bistrog dijela otopine, otpipetira se po 10 mL u dvije epruvete. U jednu epruvetu doda se 4 mL destilirane vode, a u drugu 4 mL 15 %-og natrijeva hidrogensulfita. Epruvete se ostave 15 minuta na sobnoj temperaturi nakon čega se na spektrofotometru izmjeri apsorbance pri 520 nm. Slijepa proba je 2 %-na otopina HCl-a.

$$Ac \text{ (mg/L)} = 615 \times (A1 - A2)$$

Ac - količina antocijana u ispitivanom uzorku (mg/L)

615 - faktor preračunavanja

A1 - apsorbanca uzorka kojem je dodana voda

A2 - apsorbanca uzorka kojem je dodana 15 %-tna otopina natrijeva hidrogensulfita.

3.3.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom temelji se na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS^{•+} radikal-kationa) koji se oblikuje bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a čiji je karakterističan adsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm. U prisutnosti antioksidansa ABTS^{•+} kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koji „gase“ različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbanca ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbanca koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) pri istim uvjetima (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

Priprema reagensa:

1. dan:

- 140 mM otopina kalijeva persulfata, K₂S₂O₈ (0,1892 g K₂S₂O₈ izvaže se i otopi u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL

- 7 mM ABTS otopina (0,0192 g ABTS reagensa otopi se u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL)

- stabilna ABTS^{•+} otopina (88 μL K₂S₂O₈ otopine (140 mM) prenese se u tikvicu u kojoj se nalazi 5 mL otopine ABTS-a; sadržaj tikvice se dobro promiješa, zatvori, obloži aluminijskom folijom i ostavi stajati 12-16 sati pri sobnoj temperaturi; stajanjem intenzitet plavo-zelene boje se pojačava)

2. dan:

Na dan provođenja svih analiza priprema se 1%-na otopina ABTS^{•+} (1 mL ABTS^{•+} otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni 96%-im etanolom do oznake. Nakon toga mjeri se apsorbanca 1%-ne otopine ABTS^{•+} pri 734 nm koja mora iznositi 0,70 ± 0,02. Ako apsorbanca otopine ne iznosi 0,734 onda ju je potrebno namjestiti, odnosno ako je apsorbanca premala u tikvicu od 100 mL pripremljene 1%-ne otopine ABTS^{•+} treba dodati još par kapi stabilne ABTS^{•+} otopine, a ako je apsorbanca prevelika onda treba razrijediti odnosno u tikvicu (100 mL) dodati još 96 %-og etanola.

NAPOMENA: Isti dan kada se pripremi 1%-na otopina ABTS^{•+} s podešenom apsorbancom na 0,70 ± 0,02 treba napraviti i sve analize uzoraka (i baždarni pravac ako je to potrebno) jer je ABTS^{•+} otopina nestabilna i nepostojana već unutar 24 sata.

Priprema uzoraka za analizu: Procedura ekstrakcije iz uzoraka ista je kao i u protokolu određivanja fenola Folin-Ciocalteu metodom. ABTS metodu najbolje je provesti kada se rade i fenoli te iz pripremljenih fenolnih ekstrakata napraviti analizu i za fenole i za ABTS tako da se poslije rezultati sadržaja fenola i ABTS-a mogu korelirati.

Postupak određivanja (spektrofotometrijski): 160 μ L uzorka (ekstrakta) pomiješa se s 2 mL 1 %-ne otopine ABTS^{•+} te se nakon 5 min mjeri apsorbanca pri 734 nm. Za slijepu probu se koristi 96 % etanol.

Izrada baždarnog pravca: Za izradu baždarnog pravca u ABTS metodi koristi se Trolox koji uzrokuje smanjenje boje ABTS^{•+} otopine. Točke određene za izradu baždarnog pravca su sljedeće: 0, 100, 200, 400, 1000, 2000 i 2500 μ mol/dm³. Najprije se pripremi stock otopina i to tako da se u odmjernu tikvicu od 25 mL izvaže 0,0156 Trolox-a, a tikvica se 80 %-im etanolom nadopuni do oznake. Iz stock otopine uzimaju se sljedeći volumeni Trolox-a za pripremu daljnjih razrjeđenja koja se pripremaju u odmjernim tikvicama od 25 mL:

- 0 → 0 mL Trolox (samo EtOH)
- 100 → 0,4 mL
- 200 → 0,8 mL
- 400 → 1,6 mL
- 1000 → 4 mL
- 2000 → 8 mL
- 2500 → 10 mL

Nakon pripreme navedenih koncentracija Trolox-a iz svake tikvice u kojoj je navedena koncentracija Trolox-a uzima se 160 μ L otopine Trolox-a i dodaje 2 mL 1%-ne ABTS^{•+} otopine podešene apsorbance (0,70 \pm 0,02). Nakon što pomiješamo dodanu koncentraciju Trolox-a i 1 %-ne ABTS^{•+} otopine izmjeri se apsorbanca pri 734 nm. I tako za svaku točku koncentracije Troloxa. Temeljem izmjerenih vrijednosti apsorbanca za svaku točku napravi se baždarni pravac.

3.3.10. Statistička obrada podataka

Rezultati istraživanja statistički su obrađeni u programskom paketu SAS, verzija 9.3 (SAS, 2010). Svi tretmani (pasterizacija i ultrazvuk) provedeni su u tri ponavljanja (n=3). Također, sve laboratorijske analize provedene su u tri ponavljanja. Rezultati su podvrgnuti jednosmjernoj analizi varijance (ANOVA). Srednje vrijednosti uspoređene su t-testom (LSD), a smatraju se značajno različitim prema $p \leq 0,0001$. Uz rezultate u tablicama nalaze se i eksponenti različitih slova koji označavaju značajne statističke razlike između promatranih kemijskih parametara kod $p \leq 0,0001$. Vrijednostima standardne devijacije (s) prikazano je prosječno odstupanje rezultata od srednje vrijednosti za pojedini kemijski parametar.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Fizikalno-kemijska svojstva soka od jagode

Rezultati analiziranih fizikalno-kemijskih svojstava sokova od jagode prikazani su u Tablici 4.1.1. Prema statističkoj analizi rezultata može se utvrditi kako se sva ispitivana fizikalno-kemijska svojstva sokova značajno razlikuju ($p \leq 0,0001$) s obzirom na primijenjeni tretman.

Najveći sadržaj ukupne suhe tvari (12,80 %, ST) utvrđen je u uzorku TP₂ 15, odnosno pasteriziranom soku pri temperaturi od 80 °C i trajanju od 15 minuta. S druge strane najmanja ST vrijednost utvrđena je u uzorku TUZV₁ 35 koji je tretiran ultrazvukom 35 minuta pri temperaturi od 60 °C. Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti kako tretman ultrazvukom nije utjecao na povećanje sadržaja suhe tvari, već su značajno veće vrijednosti utvrđene u pasteriziranim uzorcima sokova.

Najveći sadržaj ukupnih kiselina (100,79 % ST) utvrđen je u uzorku tretiranom ultrazvukom pri 60 °C i 35 minuta (TUZV₁ 35), dok je najniža vrijednost (77,97 % ST) utvrđena u pasteriziranom soku od jagode pri temperaturi od 80 °C i 15 minuta (TP₂ 15). Općenito, prema dobivenim rezultatima svi pasterizirani uzorci soka od jagode imali su niže vrijednosti ukupnih kiselina u odnosu na one tretirane ultrazvukom neovisno o primijenjenoj temperaturi i trajanju obrade.

Najveći sadržaj ukupne topljive suhe tvari (TST) utvrđen je u uzorku koji je pasteriziran pri temperaturi od 80 °C kroz 35 minuta (TP₂ 35), dok je najmanja vrijednost utvrđena u uzorku TP₁ 35, odnosno soku pasteriziranom u trajanju od 35 minuta pri temperaturi od 60 °C. Uspoređujući sokove toplinski obrađene, odnosno pasterizirane i one tretirane ultrazvukom, može se zaključiti kako ultrazvuk nije značajno utjecao na promjenu TST, s obzirom da su općenito niže vrijednosti utvrđene u sokovima tretiranim ultrazvukom, no svega prosječno manje od 1 %.

Tretman ultrazvukom nije utjecao na promjene pH vrijednosti uzoraka sokova. pH vrijednost uzoraka sokova kretala se u rasponu od 3,32 (TUZV₂ 35) do 3,41 (TP₁ 15) pri čemu su veće vrijednosti utvrđene u pasteriziranim sokovima u usporedbi s onim tretiranim ultrazvukom.

Pasterizacija je pozitivno utjecala na električnu provodljivost (EC) u ispitivanim uzorcima sokova. Naime, pasterizirani sokovi jagoda imali su značajno veće EC vrijednosti u usporedbi i s kontrolnim uzorkom i s uzorcima tretiranim ultrazvukom i to neovisno o temperaturi sustava i vremenu obrade. U skladu s navedenim, najmanja EC vrijednost (2,20 mS/cm) utvrđena je u uzorku tretiranom ultrazvukom pri sobnoj temperaturi u trajanju od 15 minuta (TUZV 15), dok je najveća vrijednost (3,45 mS/cm) utvrđena u uzorku pasteriziranom u vremenskom periodu od 35 minuta pri temperaturi od 80 °C (TP₂ 35).

Tablica 4.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva soka od jagode

Uzorak	ST (%)	KIS (% ST)	TST (%)	pH	EP (mS/cm)
Kontrola					
TK	9,42 ^{ef} ±0,06	92,11 ^d ±1,98	8,50 ^c ±0,1	3,406 ^{ab} ±0,01	2,83 ^d ±0,02
Pasterizacija					
TP ₁ 15	9,80 ^d ±0,05	91,91 ^d ±0,82	8,50 ^c ±0,1	3,41 ^a ±0,02	3,07 ^c ±0,01
TP ₁ 35	11,29 ^c ±0,19	82,95 ^e ±1,84	8,47 ^d ±0,81	3,406 ^{ab} ±0,03	3,22 ^b ±0,01
TP ₂ 15	12,80 ^a ±0,37	77,97 ^f ±2,50	9,43 ^b ±0,21	3,39 ^{ab} ±0,01	3,21 ^b ±0,03
TP ₂ 35	12,33 ^b ±0,07	96,57 ^{bc} ±0,71	11,73 ^a ±0,06	3,39 ^{ab} ±0,01	3,45 ^a ±0,03
Ultrazvučni tretman					
TUZV 15	9,43 ^{ef} ±0,08	95,45 ^{bcd} ±1,25	8,53 ^c ±0,06	3,37 ^{bc} ±0,01	2,20 ^g ±0,06
TUZV 35	9,50 ^{de} ±0,06	95,09 ^{bcd} ±0,30	8,70 ^c ±0,1	3,36 ^{cd} ±0,02	2,61 ^e ±0,02
TUZV ₁ 15	9,37 ^{ef} ±0,04	94,73 ^{cd} ±0,69	8,70 ^c ±0,1	3,36 ^{cd} ±0,03	2,48 ^f ±0,04
TUZV ₁ 35	9,00 ^g ±0,06	100,79 ^a ±2,33	8,67 ^c ±0,06	3,33 ^{cd} ±0,02	2,88 ^d ±0,05
TUZV ₂ 15	9,42 ^{ef} ±0,26	95,53 ^{bcd} ±3,34	8,87 ^{bc} ±0,21	3,35 ^{cd} ±0,03	2,84 ^d ±0,01
TUZV ₂ 35	9,11 ^{fg} ±0,06	98,91 ^{ab} ±0,49	8,63 ^c ±0,06	3,32 ^d ±0,01	2,87 ^d ±0,04
Pr≤F	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

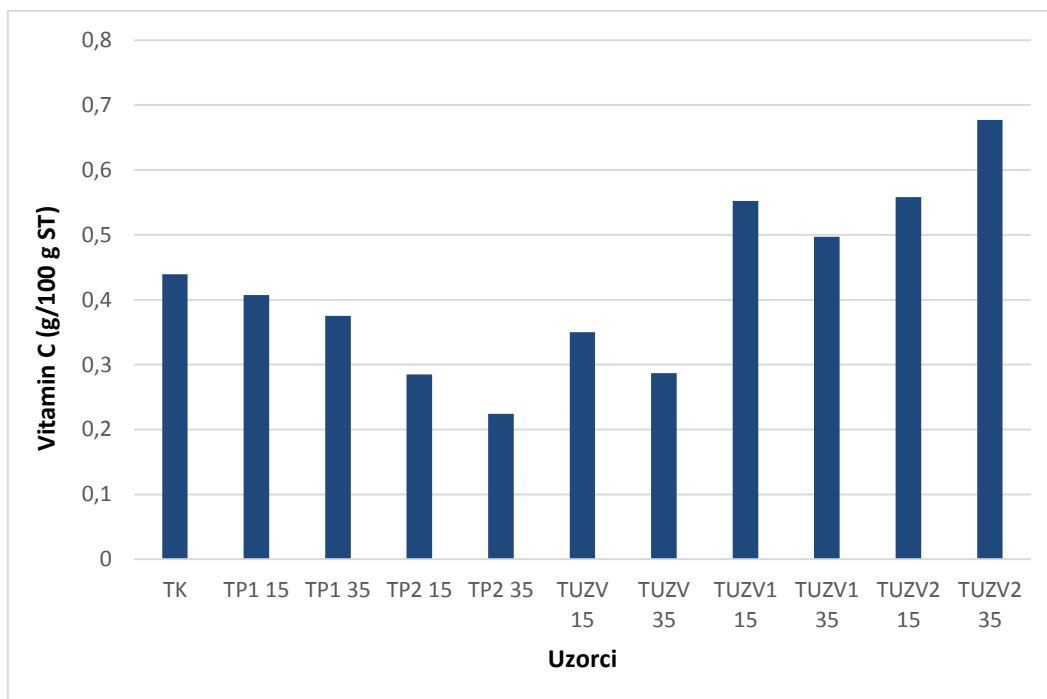
ST- sadržaj suhe tvari; KIS- sadržaj ukupnih kiselina; TST- ukupna topljiva suha tvar; EP- električna provodljivost

4.2. Sadržaj specijaliziranih metabolita

U Tablici 7.1. (Prilog rada) prikazani su rezultati analiziranih bioaktivnih komponenti uzoraka sokova od jagode. Analizom varijance dobivenih rezultata utvrđene su vrlo značajne statističke razlike ($p \leq 0,0001$) između svih istraživanih tretmana.

Vitamin C ili askorbinska kiselina je vitamin topljiv u vodi karakterističan kao jak antioksidans, značajnog pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje. Među voćnim vrstama jagoda je jedna od najbogatijih vitaminom C. Međutim, prilikom prerade, ali i tijekom perioda skladištenja vitamin C lako oksidira i reducira. Ova je činjenica od velike važnosti za proizvođače sokova kako bi odabrali adekvatnu metodu obrade i prerade s ciljem što manjeg gubitka vitamina C, a time i drugih kvalitativnih svojstava gotovog proizvoda (Sapeia i Hwa, 2014). Rezultati sadržaja vitamina C dobiveni u ovom istraživanju prikazani su u Grafikonu 4.2.1. i Tablici 7.1. (Prilog rada). Prema dobivenim rezultatima najviši sadržaj vitamina C (0,677 g/100 g ST) utvrđen je u uzorku tretiranom ultrazvukom pri temperaturi od 80 °C u vremenskom trajanju od 35 min (TUZV₂ 35), dok je najmanji sadržaj (0,224 g/100 g ST) utvrđen u pasteriziranom uzorku soka pri 80 °C u trajanju od 35 minuta (TP₂ 35). Svi istraživani tretmani pasterizacije (TP₁ 15, TP₁ 35, TP₂ 15, TP₂ 35) negativno su utjecali na sadržaj vitamina C, prilikom čega je utvrđeno smanjenje za čak više od 50 % usporedbom sadržaja vitamina C kontrolnog uzorka (TK) i uzorka soka pasteriziranog pri 80 °C kroz 35 min (TP₂ 35). Tretman ultrazvukom bez primjene više temperature (60 i 80 °C) nije utjecao na povećanje sadržaja vitamina C, no tretmani ultrazvukom pri 60 i 80 °C neovisno o vremenskom trajanju utjecali su na povećanje sadržaja u usporedbi s kontrolnim uzorkom, ali i uzorcima koji su pasterizirani. Uspoređujući kontrolni uzorak soka i uzorak TUZV₂ 35

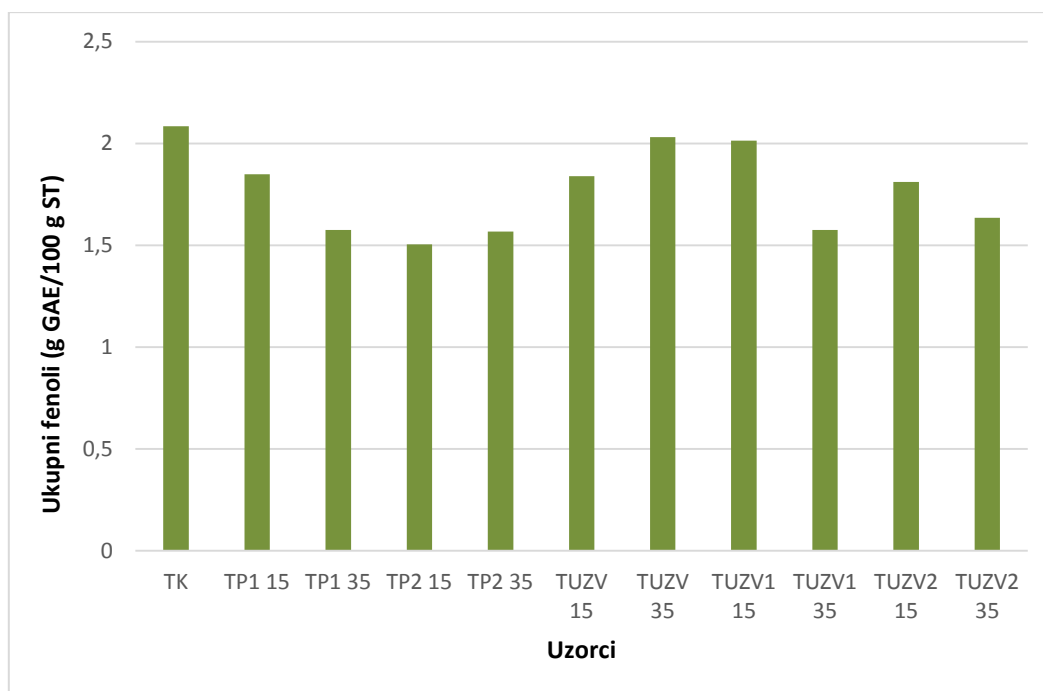
(ultrazvuk 80 °C, 35 min), čak 54 % veći sadržaj vitamina C utvrđen je u uzorku TUZV₂ 35. Prema svim analiziranim podacima može se zaključiti kako je tretman ultrazvukom uz upotrebu više temperature pozitivno utjecao na povećanje sadržaja vitamina C u uzorku soka od jagode.



Grafikon 4.2.1. Sadržaj vitamina C (g/100 g ST) u uzorcima soka od jagode

Fenoli sudjeluju u brojnim biokemijskim procesima na razini biljne stanice, a koji se odvijaju tijekom faza zrenja i dozrijevanja plodova te su uključeni u mehanizme formiranja boje, okusa i arome svojstvene svakoj voćnoj vrsti. Isto tako, uključeni su i u različite nepoželjne procese koji nastaju tijekom prerade svježeg voća. Zbog strukture molekule, fenolni spojevi imaju snažno antioksidacijsko djelovanje koje se povezuje s različitim fiziološkim učincima u ljudskom organizmu, primjerice protuupalno, antialergijsko, te antikancerogeno djelovanje (Rotelli i sur., 2003). Sadržaj ukupnih fenola u istraživanim uzorcima sokova bio je u rasponu od 1,504 do 2,084 g GAE/100 g ST. Najviša vrijednost ukupnih fenola utvrđena je u uzorku kontrole (TK), dok je najniža vrijednost zabilježena u pasteriziranom soku pri 80 °C kroz 15 minuta (TP₂ 15). Svi tretmani toplinske obrade soka procesom pasterizacije neovisno o temperaturi i vremenu obrade značajno su negativno utjecali na sadržaj ukupnih fenola, prilikom čega je utvrđena čak 39 % manja vrijednost ukupnih fenola u uzorku pasteriziranom pri 80 °C kroz 15 minuta u usporedbi s kontrolnim uzorkom, odnosno svježim sokom od jagode. Suprotno, tretman ultrazvukom nije tako značajno utjecao na smanjenje vrijednosti ukupnih fenola, te uspoređujući sadržaj ukupnih fenola u kontrolnom uzorku s uzorcima tretiranim ultrazvukom pri sobnoj temperaturi kroz 35 minuta obrade (TUZV 35) nisu utvrđene značajno niže vrijednosti, svega 3 %. Uspoređujući sadržaj ukupnih fenola između pasteriziranih sokova i sokova tretiranih ultrazvukom može se

zaključiti kako su uzorci sokova tretirani ultrazvukom imali više vrijednosti ukupnih fenola i to prosječno gledajući čak 12 % veće.

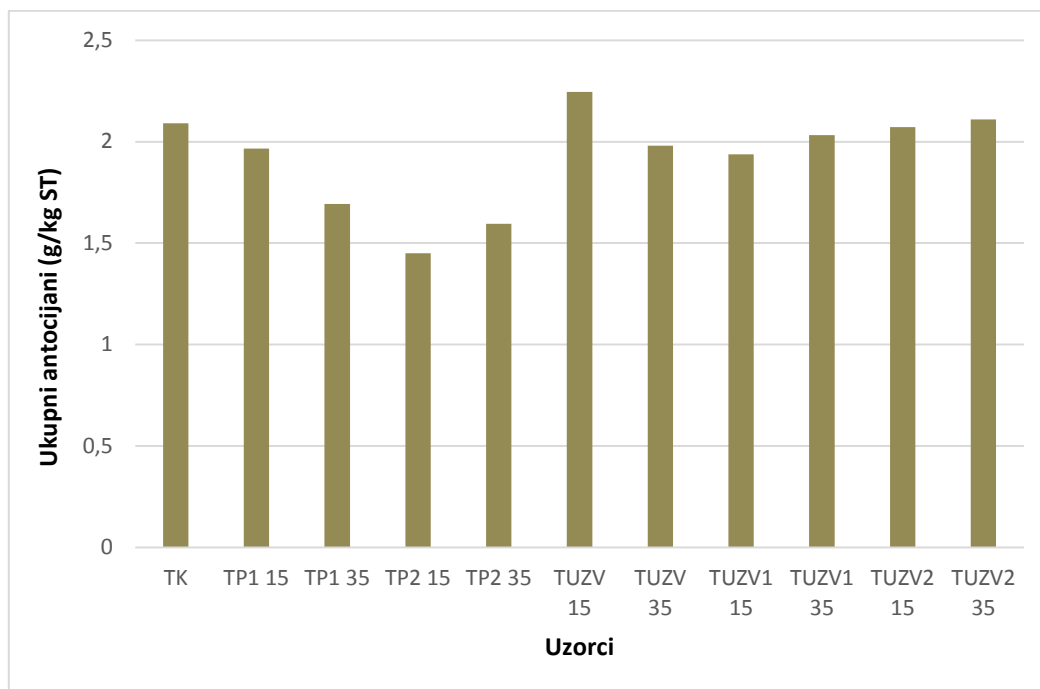


Grafikon 4.2.2. Sadržaj ukupnih fenola (g GAE/100 g ST) u uzorcima soka od jagode

Najveći sadržaj flavonoida (0,918 g GAE/100 g ST) utvrđen je u uzorku tretiranom ultrazvukom 15 minuta pri sobnoj temperaturi (TUZV 15), a u kojem je utvrđena čak 14 % veća vrijednost flavonoida u usporedbi s kontrolnim uzorkom (TK) (Tablica 7.1., Prilog rada). U pasteriziranim uzorcima uglavnom su utvrđene niže vrijednosti ukupnih flavonoida u usporedbi s kontrolnim uzorkom i uzorcima tretiranim ultrazvukom uz izuzetak uzorka soka pasteriziranog pri 60 °C kroz 15 minuta (TP₁ 15) u kojem je utvrđena viša vrijednost. Ultrazvučni tretman pozitivno je utjecao na sadržaj flavonoida, prilikom čega su više vrijednosti flavonoida utvrđene u svim varijantama tretmana ultrazvukom uz izuzetak tretmana pri 80 °C kroz 35 minuta (TUZV₂ 35) u kojem je utvrđena čak 54 % niža vrijednost od one najviše utvrđene za flavonoide u uzorku tretiranom ultrazvukom kroz 15 min pri sobnoj temperaturi (TUZV 15).

Vrijednosti sadržaja ukupnih neflavonoida u tretiranim sokovima jagode prikazani su u Tablici 7.1. (Prilog rada). Najviša vrijednost (1,280 g GAE/100 g ST) ukupnih neflavonoida utvrđena je u kontrolnom uzorku (TK), dok je najniža (0,787 g GAE/100 g ST) utvrđena u uzorku koji je pasteriziran pri 80 °C kroz 15 minuta (TP₂ 15). Pasterizirani uzorci općenito su imali nešto niže vrijednosti ukupnih neflavonoida od uzoraka tretiranih ultrazvukom. Od uzoraka tretiranih ultrazvukom najniža vrijednost utvrđena je u uzorku tretiranom pri sobnoj temperaturi u trajanju od 15 minuta (TUZV 15), dok je najviša utvrđena u uzorku tretiranom pri sobnoj temperaturi u trajanju od 35 minuta (TUZV 35).

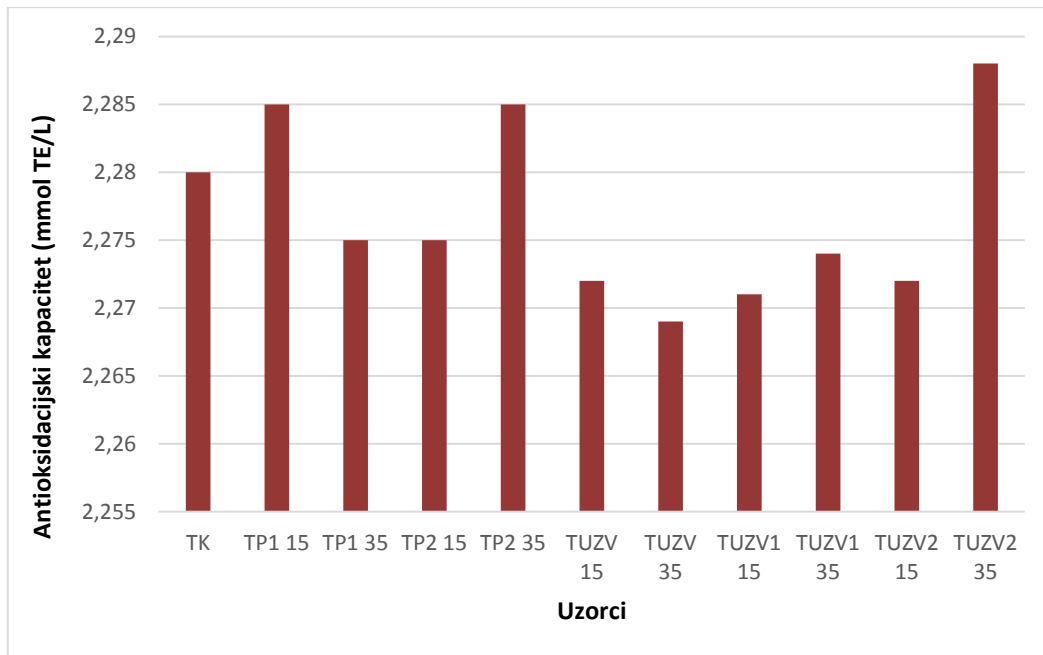
Antocijani su najpoznatiji i kvantitativno najzastupljeniji fenolni spojevi jagode. Oni su glavni nositelji specifične crvene boje ploda jagode. Osnovu strukture antocijana čini aglikon antocijanidin koji se veže sa šećerom kako bi nastala stabilnija glikozidna struktura (Wicklund i sur., 2005), a u kojoj se antocijani pojavljuju u prirodi. Poznato je mnogo različitih antocijana koji se razlikuju brojem i položajem metilnih i hidroksilnih skupina na benzenskom prstenu. Mnoge studije utvrdile su ukupnu količinu antocijana u jagodi s vrijednostima od 150 do 600 mg/kg svježe jagode (Giampieri, 2012). U sklopu ovog istraživanja najniža vrijednost ukupnih antocijana (1,45 g/kg ST) utvrđena je u pasteriziranom soku pri temperaturi od 80 °C kroz 15 minuta obrade (TP₂ 15), dok je najviša vrijednost (2,246 g/kg ST) utvrđena u uzorku tretiranom ultrazvukom pri sobnoj temperaturi kroz 15 min (TUZV 15) (Grafikon 4.2.3., Tablica 7.1., Prilog rada). U svim pasteriziranim uzorcima sokova utvrđene su značajno niže vrijednosti ukupnih antocijana u usporedbi i s kontrolnim uzorkom i uzorcima tretiranim ultrazvukom. Od pasteriziranih uzoraka najniža vrijednost utvrđena je u uzorku pasteriziranom pri 80 °C u trajanju od 15 minuta (TP₂ 15), dok je najviša vrijednost utvrđena kod uzorka pasteriziranog pri 60 °C u trajanju od 15 minuta (TP₁ 15). Neovisno o načinu tretmana (pasterizacija ili ultrazvuk) viša temperatura sustava (i 60 i 80 °C) značajno je negativno utjecala na sadržaj ukupnih antocijana, a čime se može zaključiti kako je upravo viša temperatura jedan od ključnih čimbenika degradacije tih vrijednih spojeva.



Grafikon 4.2.3. Sadržaj ukupnih antocijana (g/kg ST) u uzorcima soka od jagode

Antioksidacijski kapacitet u korelaciji je sa sadržajem spojeva koji neutraliziraju slobodne radikale kao što su fenolni spojevi, vitamin C, pigmenti i drugi (Huang, 2012). Prema brojnim listama, popisima namirnica visokog antioksidacijskog kapaciteta (TAC), jagode su jedna od voćnih vrsta s najvišim vrijednostima. Također, pojedini spojevi nutritivnog sastava pokazuju značajno antioksidacijsko djelovanje te ih kao takve svrstavamo

u kategoriju jakih antioksidansa. Jedan od navedenih spojeva je i vitamin C koji prema studijama pokazuje čak 30 % TAC, zatim antocijani s 25 do 40 %, dok ostatak čine derivati elagitanina i flavonola (Giampieri, 2012). Rezultati antioksidacijske aktivnosti uzoraka sokova prikazani su u Grafikonu 4.2.4. i Tablici 7.1. (Prilog rada). Najviša vrijednost antioksidacijskog kapaciteta (2,288 mmol TE/L) utvrđena je u uzorku tretiranom ultrazvukom pri 80 °C u trajanju od 35 minuta (TUZV₂ 35), dok je najniža vrijednost (2,269 mmol TE/L) utvrđena za uzorak tretiran ultrazvukom pri sobnoj temperaturi u trajanju od 35 minuta (TUZV 35).



Grafikon 4.2.4. Antioksidacijski kapacitet (mmol TE/L) uzoraka soka od jagode

5. Zaključci

Temeljem provedenog istraživanja može se zaključiti:

1. U pasteriziranim uzorcima sokova utvrđen je veći sadržaj sljedećih fizikalno-kemijskih svojstava: suhe tvari, topljive suhe tvari i električne provodljivosti, dok je veći sadržaj kod ultrazvučnog tretmana utvrđen jedino za ukupne kiseline.
2. Ultrazvuk je utjecao na povećanje sadržaja svih specijaliziranih metabolita: vitamina C, fenola, flavonoida, neflavonoida, antocijana i antioksidacijskog kapaciteta.
3. Ultrazvuk utječe na povećanje nutritivne vrijednosti soka od jagode, te kako se može koristiti u svrhu obrade istog sa značajnim očuvanjem vrijednih bioaktivnih spojeva.
4. Potrebna su daljnja istraživanja ultrazvučne obrade sokova s ciljem utvrđivanja efikasnosti ultrazvuka na mikroorganizme, odnosno mogućnosti primjene ultrazvuka u svrhu osiguranja higijenske ispravnosti gotovog proizvoda.

6. Popis literature

1. AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, USA.
2. AOAC (2002). Official methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, USA.
3. Bebek J. (2016). Utjecaj postupka pripreme i zamrzavanja te skladištenja na kvalitetu kaše jagode. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
4. Bosiljkov T., Tripalo B., Brnčić M., Ježek D., Karlović S., Jaguš, I. (2010). Influence of High Intensity Ultrasound With Different Probe Diameter on the Degree of Homogenization (variance) and Physical Properties of cow Milk. *African Journal of Biotechnology*, 10(1): 34-41.
5. Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.
6. Brnčić M. (2006). Utjecaj ultrazvuka na svojstva sirovine za ekstruziju i gotovog ekstrudiranog proizvoda. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
7. Butz P., Tauscher B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35: 279 – 284.
8. Chemat F., Huma Z., Khan M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 813- 835.
9. Dubrović I., Herceg Z., Režek Jambrak A., Badanjak M., Dragović-Uzelac V. (2011). Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin content in strawberry juice.
10. Giampieri F., Tulipani S., Alvarez-Suarez J., Quiles J., Mezzeti B., Battino M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, impact on human health. *Nutrition*, 28: 9-19.
11. Grbeš F. (2017). Ne-toplinske tehnike- održive tehnike. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
12. Hoover D. G. (2000). Ultrasound. *Journal of Food Science*, 65: 93–95.

13. Huang W.Y., Zhang H.C., Liu W.X., Li C.Y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University Science B*, 13(2): 94–102.
14. Knorr D., Zenker M., Heinz V., Lee D-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 261-266.
15. Lovrić T. (2003). *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. HINUS, str. 238 – 283.
16. Marszałek K, Mitek M, Skąpska S. (2011). Application of high hydrostatic pressure (UHP) to stabilize strawberry juices and nectars. *ZYWNOSC- Nauka Technologia Jakosc*, 1(74): 113–123.
17. Marszałek K., Mitek M., Skąpska S. (2015). The effect of thermal pasteurization and high pressure processing at cold and mild temperatures on the chemical composition, microbial and enzyme activity in strawberry purée. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27: 48–56.
18. Miller N. J., Diplock A. T., Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4): 407–412.
19. Niketić - Aleksić G. (1988). *Tehnologija bezalkoholnih pića*, Beograd.
20. Ough C. S., Amerine M. A. (1988). *Methods for Analysis of Musts and Wines*. John Wiley and Sons, New York, USA.
21. Ramos L., Kristenson E. M., Brinkman U. A. T. (2002). Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 975: 3–29.
22. Rawson A., Tiwari B.K., Patras A., Brunton N., Brennan C., Cullen P.J., O'Donnell C.P. (2011). Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, 44: 1168–1173.
23. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10): 1231-1237.

24. Rotelli A.E., Guardia T., Juárez A.O., De La Rocha N.E., Pelzer L.E. (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research*, 48: 601-606.
25. Sapeia L., Hwa L. (2014). Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices.
26. SAS/STAT (2010). SAS Institute, Cary, NC, USA.
27. Tiwari B.K, O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Cullen P.J. (2008). Effect of ultrasound processing on the quality and nutritional properties of fruit juices. *Stewart Postharvest Review*, 4: 1–6.
28. Tiwari B.K., O'Donnell C.P., Patras A., Cullen P.J. (2008). Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10071–10077.
29. Tiwari B.K, O'Donnell C.P., Cullen P.J. (2009). Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93: 166–171.
30. Tiwari B.K, O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Cullen P.J. (2009). Effect of sonication on orange juice quality parameters during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 44: 586–595.
31. Tiwari B.K., O'Donnell C.P., Patras A., Brunton N.P., Cullen P.J. (2009). Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228: 717–724.
32. Törrönen R., Määttä K. (2000). Bioactive substances and health benefits of strawberries. *IV International Strawberry Symposium*, 567: 797-803.
33. Vinatoru M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.
34. Voća S., Šic Žlabur J., Dobričević N., Jakobek L., Šeruga M., Galić A., Pliestic S. (2014). Variation in the Bioactive Compound Content at Three Ripening Stages of Strawberry Fruit. *Molecules*, 19: 10370-10385.
35. Wicklund T., Rosenfeld H.J., Martinsen B.K., Sundfor M.W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K. (2005). Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *Food Science and Technology*, 38: 387-391.

36. Wu J., Nyborg W. L. (2008). Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60: 1103–1116.

7. Prilog

Tablica 7.1. Sadržaj specijaliziranih metabolita soka od jagode

Uzorak	VIT C (g/100 g ST)	FENL (g GAE/100 g ST)	FLAV (g GAE/100 g ST)	NFLV (g GAE/100 g ST)	ANT (g/kg ST)	AK (mmol TE/L)
Kontrola						
TK	0,439 ^{cd} ±0,64	2,084 ^a ±0,06	0,804 ^{bcd} ±0,15	1,280 ^a ±0,12	2,091 ^b ±0,006	2,28 ^b ±0,05
Pasterizacija						
TP ₁ 15	0,407 ^{cd} ±0,86	1,849 ^c ±0,004	0,857 ^{ab} ±0,13	0,992 ^d ±0,11	1,966 ^{bc} ±0,13	2,285 ^b ±0,001
TP ₁ 35	0,375 ^{de} ±0,93	1,575 ^e ±0,02	0,7 ^f ±0,16	0,875 ^e ±0,09	1,693 ^d ±0,46	2,275 ^c ±0,04
TP ₂ 15	0,285 ^{ef} ±0,182	1,504 ^f ±0,04	0,716 ^{ef} ±0,21	0,787 ^f ±0,19	1,450 ^e ±0,52	2,275 ^c ±0,01
TP ₂ 35	0,224 ^f ±0,08	1,568 ^e ±0,005	0,777 ^{de} ±0,009	0,791 ^f ±0,004	1,596 ^{de} ±0,05	2,285 ^b ±0,003
Ultrazvučni tretman						
TUZV 15	0,350 ^{de} ±0,23	1,839 ^c ±0,013	0,918 ^a ±0,69	0,922 ^e ±0,56	2,246 ^a ±0,20	2,272 ^{de} ±0,05
TUZV 35	0,287 ^{ef} ±0,35	2,031 ^{ab} ±0,13	0,854 ^{abc} ±0,13	1,177 ^b ±0,19	1,980 ^{bc} ±0,48	2,269 ^e ±0,001
TUZV ₁ 15	0,552 ^b ±0,89	2,013 ^b ±0,12	0,915 ^a ±0,13	1,098 ^c ±0,21	1,938 ^c ±0,17	2,271 ^e ±0,003
TUZV ₁ 35	0,497 ^{bc} ±0,25	1,576 ^e ±0,13	0,652 ^{fg} ±0,16	0,924 ^e ±0,13	2,032 ^{bc} ±0,02	2,274 ^{cd} ±0,05
TUZV ₂ 15	0,558 ^b ±0,81	1,811 ^c ±0,61	0,783 ^{cde} ±0,63	1,028 ^d ±0,41	2,072 ^{bc} ±0,63	2,272 ^{de} ±0,03
TUZV ₂ 35	0,677 ^a ±0,55	1,635 ^d ±0,08	0,598 ^g ±0,009	1,037 ^d ±0,08	2,109 ^{ab} ±0,25	2,288 ^a ±0,03
Pr≤F	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

VIT C- sadržaj vitamina C; FENL- sadržaj ukupnih fenola; FLAV- sadržaj ukupnih flavonoida; NFLV- sadržaj ukupnih neflavonoida; ANT- sadržaj ukupnih antocijana; AK- antioksidacijski kapacitet. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

Životopis

Luka Jasenko rođen je 18.5.1994. u Bjelovaru. Srednju školu, Opću gimnaziju, pohađa također u Bjelovaru. Nakon toga nastavlja sa studentskim obrazovanjem u Zagrebu. Godine 2013. upisuje preddiplomski studij na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu, smjer Sanitarno inženjerstvo, koje uspješno pohađa i završava 2016. godine. Poslije završetka preddiplomskog studija upisuje diplomski studij Agronomskog fakulteta, Hortikultura-Voćarstvo. Koristi se engleskim (razumijevanje: stupanj B1, govor: stupanj B1, pisanje: stupanj B1) i njemačkim jezikom (razumijevanje: stupanj A2, govor: A2, pisanje: A2). Od svoje 7. godine aktivno se bavi igranjem nogometa u kojem je ostao sve do danas.